

High-Density Lipoprotein Cholesterol Content Assay Kit

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量测定试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1387B	高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量测定试剂盒 微板法	96T

产品简介:

胆固醇酯酶(ChE)和胆固醇氧化酶(CHOD)经化学修饰后,与葡萄糖硫酸钠、硫化环状糊精复合物并用,使对 LDL、VLDL、乳糜微粒的酶反应性降低,只选择性与 HDL-胆固醇发生作用。基于此原理,在第一步反应中使 LDL、VLDL、乳糜微粒与葡萄糖硫酸钠、硫化环状糊精复合物结合,在第二步反应中利用化学修饰的 ChE、CHOD,无须分离其他脂蛋白直接测定 HDL-胆固醇。即利用化学修饰的 ChE 催化胆固醇酯水解生成游离胆固醇(FC),FC 在 CHOD 作用下被氧化生成 4-胆甾烯酮和 H₂O₂;接着与 4-氨基氨替吡啶等反应生成红色醌类化合物,其在 546nm 处有特征吸收峰,通过检测 546nm 处吸光值即可得出 HDL-C 含量。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 18mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	液体 0.1mL×1 支	4℃保存	标准品浓度为 1.19mmol/L。

使用方法:

建议正式实验前,选取 2 个样本做预测定,了解实验样品情况,熟悉流程,避免样本和试剂浪费。

一、样本准备:

1. 组织样本准备:

(a) 称取约 0.1g 组织,加入 1mL 无水乙醇,进行冰浴匀浆;

(b) 12000rpm 4℃离心 10min 后取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):无水乙醇体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

2. 细胞/细菌样本准备:

(a) 先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;

(b) 取 5×10⁶ 个细菌或细胞加入 1mL 无水乙醇;超声波破碎细菌或细胞(冰浴,200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);

(c) 12000rpm, 4℃离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,按照每 0.5~1×10⁷ 个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

3. 液体样本准备:

(a) 液体样本:澄清的液体样本直接测定,若浑浊则离心后取上清检测。

(b) 血清样本:若是常规的澄清的血清样本,可直接按操作表加入试剂后检测;

若血清样本中含的蛋白含量较高,按操作表加入试剂后会产生浑浊现象,可先取 200μL 血清+200μL 乙醇,上下混匀几次,于 8000rpm, 4℃离心 5min,取上清液待测。

二、样品测定:

1. 酶标仪计预热 30min 以上,调节波长至 546nm,蒸馏水调零。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



2. 所有试剂解冻至室温（25℃），在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	标准管 (做一次)	空白管 (做一次)
样本	2.5	-	-
标准品	-	2.5	-
蒸馏水	-	-	2.5
试剂一	180	180	180
混匀，37℃孵育 5min，于波长 546nm 处读取各管吸光值 A1。			
试剂二	60	60	60
混匀，37℃孵育 10min，于 546nm 处读取各管吸光值 A2。 $\Delta A = A2 - A1$ 。			

【注】1. 若测定管的 A2 值大于 1，则需将样本用乙醇进行稀释，稀释倍数 D 需代入公式重新计算。

2. 若 ΔA 测定低于 ΔA 空白，可增加加样体积 V1（如测定管的样本量和空白管的蒸馏水增至 5 μL 或更多，则试剂一和二保持不变；标准品仍为 2.5 μL ，额外加 2.5 μL 蒸馏水补齐）；或增加样本取样质量 W（如增至 0.2g 或更多），则改变的 V1 和 W 则代入公式重新计算。

三、含量计算

1、按样本质量计算：

$$\text{HDL-C}(\mu\text{mol/g 重量}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D}$$

$$= 1.19 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{W} \times \text{D}$$

2、按细胞/细菌数量计算：

$$\text{HDL-C}(\text{nmol}/10^4 \text{cell}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times 10^3 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D}$$

$$= 2.38 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times \text{D}$$

3、液体中 HDL-C 含量计算：

$$\text{HDL-C}(\text{mmol/L}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{V1} \times \text{D}$$

$$= 1.19 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times \text{D}$$

4、血清中 HDL-C 含量计算：

$$\text{HDL-C}(\text{mmol/L}) = (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div \text{V1} \times 2 \times \text{D}$$

$$= 2.38 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times \text{D}$$

C 标准---1.19mmol/L=1.19 $\mu\text{mol/mL}$

V2---标准品加入体积，0.0025mL

D---稀释倍数，未稀释即为 1

500---细胞数量，万

V1---样本加入体积，0.0025mL

V---提取液体积，1mL

2---血清前处理中的稀释倍数

W---样本取样质量，g

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

4℃保存六个月。

